Beiträge zur Histochemie der Pflanze.

Von **Alexander Rosoll.**

(Arbeiten des pflanzenphysiol. Institutes der Wiener Universität XXVII.)

Die Zahl der chemischen Individuen, welche die Pflanze in ihrem Gewebe erzeugt, ist überaus gross. Mehr als tausend dieser Verbindungen sind auf makrochemischem Wege aus der Pflanze bereits dargestellt worden, und noch immer liefert fast jede gut ausgeführte Analyse einer sonst noch nicht untersuchten Pflanze neue, nicht gekannte Producte. Ist nun auch eine nicht geringe Anzahl dieser Substanzen eingehend untersucht worden, so ist man doch in den meisten Fällen bis zur Gegenwart nicht im Stande, dieselben mikroskopisch zu erkennen und direct in der Pflanze nachzuweisen. In der physiologischen Chemie wurde die mikrochemische Analyse bisher viel zu wenig berücksichtiget. Die Folge davon ist, dass unsere Kenntnisse über die Form des Auftretens organischer Substanzen, über den wahren Sitz in den Gewebselementen, über die Zeit der Entstehung, sowie über die Veränderungen in verschiedenen Functions-Perioden der Pflanze noch sehr unvollkommen sind. Und doch sind solche Untersuchungen sowohl in wissenschaftlicher als auch in praktischer Beziehung von grosser Wichtigkeit. Einen kleinen Beitrag nach dieser Richtung zu liefern ist Aufgabe der nachfolgenden Blätter.

I. Das Helichrysin.

Im Frühling des abgelaufenen Jahres wurden mir von Herrn Professor Wiesner die Blütenköpfchen der neuholländischen Strohblumen *(Helichrysum bracteatum* Willd. var. *monstrosum)* behufs genauen Studiums des darin auftretenden eigenthümlichen Farbstoffes zur Untersuchung empfohlen.

Die Pflanze, deren köpfchenförmige Inflorescenzen sich im aufgeblühten Zustand sofort durch die lebhaft gelbe Farbe, welche sogar durch lange direct einwirkendes Sonnenlicht nicht verändert wird, auszeichnen, wird gegenwärtig allgemein in den Gärten Deutschlands cultivirt, indem die getrockneten Köpfchen zu Immortellenkränzen verwendet werden. Daselbst ist es an manchen Orten auch gebräuchlich, die getrockneten Köpfchen in Boraxlösung, der man etwas Salzsäure zufügt, einzutauchen, wodurch die Involucralblättchen schön rubinroth gefärbt werden Schon daraus konnte man schliessen, dass das vermuthliche Pigment mit den bisher bekannten gelben Blüthenfarbstoffen[1] nicht identisch sei. Diese Ansicht bestätigte auch die weitere chemische Untersuchung. Der Farbstoff lässt sich schwer durch kaltes, leicht durch kochendes Wasser, Weingeist, Alkohol, Aether und organische Säuren (Essigsäure, Oxalsäure und Weinsäure), nicht aber durch Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff ausziehen.

---

[1] L. Cl. Marquart (die Farben der Blüthen, Bonn 1835) beschäftigte sich zuerst mit den Blüthenfarbstoffen. Er nannte den den meisten gelben Blüthen gemeinsamen Farbstoff „Anthoxanthin“ ohne Unterschied, ob derselbe im Wasser löslich oder unlöslich war. Nach ihm kömmt auch in den gelben Blüthen ein in Wasser löslicher, farbloser Stoff vor, der durch Alkalien noch bei grosser Verdünnung gelb gefärbt wird. Es ist dies Hope's Xanthogen (Journal f. prakt. Chemie, 10. Bd., pag. 269). Nach Marquart unterschieden Fremy und Cloez (Journal f. prakt. Chemie, 62. Bd., pag. 269) das nur in Alkohol lösliche, an Protoplasma gebundene Blumengelb „Xanthin“ von dem in Wasser löslichen, dem „Xanthein“ während J. W. L. Thudichum (Chemisches Centralbatt Jahrg. 1869, pag. 65) für das in Alkohol lösliche Pigment den Namen „Lutein“ einführte und unter diesem nicht blos Pflanzenfarbstoffe, sondern auch gelbe Pigmente thierischen Ursprungs zusammenfasste, was er übrigens nur aus spectral analytischen Beobachtungen folgerte. G. Kraus (Über Chlorophyllfarbstoffe pag. 114) betrachtet das in Wasser lösliche Blumengelb als grundverschieden von dem in Alkohol löslichen und hält das letztere bei einem grossen Theile der betreffenden Blüthentheile geradezu identisch mit dem gelben Chlorophyllbestandtheil (Xanthophyll), welcher beim Schütteln einer Rohchlorophyllösung mit Benzol im Weingeist zurückbleibt.

Was den chemischen Nachweis des Anthoxanthin betrifft, so ist zu bemerken, dass es weder durch Alkalien noch durch verdünnte Salzsäure, Phosphorsäure oder verdünnte Schwefelsäure verändert, durch Salpetersäure dagegen grünlich gefärbt wird und durch concentrirte Schwefelsäure durch Grün in ein schönes Blau übergeht.

Das alkoholische Extract reagirt neutral und hat eine schöne goldgelbe Farbe, welche bei Zusatz von frisch bereitetem Chlorwasser verschwindet. Besonders interessant ist aber die Thatsache, dass Mineralsäuren und Alkalien dieselbe Farbenreaction hervorbringen. So werden die Blättchen und der alkoholische Auszug bei Behandlung mit concentrirter Salzsäure, Schwefelsäure, rauchender Salpetersäure, Kalilauge, Natronlauge und Ammoniak schön purpurroth gefärbt. Die durch Säuren oder Alkalien so gefärbten Lösungen erhalten bei vorsichtiger Neutralisation wieder ihre ursprüngliche gelbe Farbe. Metalloxyde und ihre Salze, wie essigsaures Blei, fällen den Farbstoff im alkoholischen Auszug mit rother Farbe. Der Niederschlag ist in Wasser und Weingeist unlöslich.

Die verwandten Species, *Helichrysum arenarium* DC., ferner das im indischen Archipel einheimische, in Südfrankreich cultivirte und daher unter dem Namen französische Immortelle bekannte *Helichrysum orientale* L., weiters die capensischen Strohblumen (*H. foetidum* Cass. und *H. hebelepis* DC.), endlich die gelbe Strandnelke (*Statice Bonduelli* Stestib.) zeigen bei gleicher Behandlung dieselben Erscheinungen, wenn auch die Intensität der Farbe geringer ist.[1]

Um das Pigment auf makrochemischem Wege und in grösserer Menge möglichst rein darzustellen, schlug ich folgenden Weg ein. Ich zog das Pigment mittelst starken Weingeist aus, dunstete ein und nahm den Rückstand mit Wasser auf. Die filtrirte Lösung wurde wieder bei geringer Temperatur eingedunstet und der jetzt gebliebene Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt. Die abermals filtrirte Lösung wurde nach Zusatz von Wasser mit essigsaurem Bleioxyd ausgefällt, der rothe Niederschlag öfters ausgewaschen, hierauf unter Wasser durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat auf dem Wasserbade bei geringer Temperatur (40—50° C.) zur Trockene gebracht. Der hinterbleibende Rückstand ist eine amorphe, harzartig glänzende,

[1] Die rothblühenden Formen von *Helichrysum* geben merkwürdigerweise nicht diese Reactionen. Sie enthalten einen Farbstoff, der sich ähnlich wie das Anthocyan verhält.

dunkelgelbe Masse, welche sich in den genannten Flüssigkeiten löst, Wolle und Seide gelb färbt und je nach der Behandlung rothe und gelbe Lacke bildet.

Es war nun zunächst meine Aufgabe, den gefundenen Farbstoff mit einem der vorhandenen zu identificiren. Allein ich erhielt durchwegs negative Resultate. Trotz genauer Durchsicht der in der Literatur aufgezählten Pflanzenstoffe war es mir unmöglich, ein analoges Verhalten irgend einer bereits beschriebenen Substanz auch nur annähernd zu finden.[1]

Weiters war zu berücksichtigen, ob das genannte Blüthenpigment sich im Protoplasma, in der Zellflüssigkeit oder in der starren Zellhaut vorfindet, sowie denn auch, in welcher Form dasselbe in der Zelle auftritt. Zu diesem Zwecke bettete ich dünne Querschnitte von vollends ausgewachsenen Involucralblättchen in fettem Öl ein und betrachtete solche unter dem Mikroskope. Es zeigte sich, dass der protoplasmatische Zellinhalt gänzlich resorbirt war, und dass die Zellmembranen, namentlich aber das stark cuticularisirte Epithel der Sitz dieses Pigmentes sei. Hierauf untersuchte ich zur Blüthezeit im Monat Juli junge, in den verschiedensten Stadien sich befindliche Blüthenköpfchen. Die oft wiederholte Untersuchung solcher Blättchen und ihrer Querschnitte ergab, dass hier das Pigment in dem homogenen Protoplasma vorkömmt, welches deutlich contourirt und scharf gegen die farblose Membran abgegrenzt ist. Behandelt man einen solchen Schnitt mit concentrirter Zuckerlösung, so sieht man, dass sich der Primordialschlauch mit dem in ihm enthaltenen Pigment contrahirt und deutlich von der Membran abhebt; lässt man aber einen solchen Schnitt längere Zeit (16 Stunden) in Haematoxylin liegen, so tritt diese Differenzirung noch intensiver und schöner auf. An den älteren Partien solcher junger Blättchen (wie an der Spitze) sah ich hingegen das Pigment ziemlich gleichmässig im Zellinhalt wie in der Membran vertheilt. Daraus geht hervor,

[1] Der in der Rinde von *Rhamnus Frangula* L. vorkommende und von Casselman Frangulin genannte Farbstoff wird wohl auch von wässerigen Alkalien und Ammoniak mit Purpurfarbe gelöst. Er ist aber auch in Schwefelkohlenstoff löslich und färbt sich mit concentrirter Schwefelsäure sogleich schön smaragdgrün und dann erst purpurfarben, was hier nicht der Fall ist.

dass der Farbstoff in den jüngeren Involucralblättchen stets als Inhaltsstoff der Zellen und zwar an den Protoplasmakörper gebunden auftritt, dass er jedoch nach dem mit steigendem Alter der Blättchen eintretenden Degradationsprocess des Protoplasmas in den betreffenden Zellen in die Membranen wandert, hier abgelagert wird und dauernd verbleibt.

Nach Constatirung dieser Thatsachen habe ich mir die Frage vorgelegt, in welche Gruppe des chemischen Systems dieser Farbstoff gehört. Die besprochenen chemischen Eigenschaften desselben lassen vermuthen, dass wir es hier mit einer zu den Chinonen gehörigen Verbindung zu thun haben. Denn alle Chinone charakterisiren sich durch eine gelbe oder rothe Farbe und können durch schweflige Säure, Natriumamalgam etc. reducirt werden. Umgekehrt entstehen sie aus den Reductionsproducten wieder durch Oxydation. Die Richtigkeit dieser Vermuthung bestätigte sich auch, indem sowohl schweflige Säure als auch Natriumamalgam in dem durch Kalilauge purpurroth gefärbten Auszug sofort die deutlichste Entfärbung hervorriefen, während bei Zusatz von überschüssigem Alkali wieder die ursprüngliche rothe Farbe zurückkehrte.

Das Resultat ist mithin folgendes:

In den Involucralblättchen der neuholländischen und capensischen Strohblumen kömmt ein gelbes bisher noch nicht beschriebenes Pigment vor, welches ich Helichrysin nenne, und welches in den jüngeren Blättchen an das Plasma gebunden ist, in den älteren bei resorbirtem Zellinhalt in der Membran seinen Sitz hat und sich dadurch charakterisirt, dass es in Wasser, Weingeist, Alkohol und Aether, wie in organischen Säuren löslich, in Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff unlöslich ist, sowohl durch Mineralsäuren als auch durch Alkalien purpurroth gefärbt und von Metalloxyden und deren Salzen im Extract mit rother Farbe gefällt wird. Dieser Körper, welcher in alkalischer Lösung sowohl von Natriumamalgam, als auch von schwefliger Säure stark reducirt wird, dürfte als eine chinonartige Verbindung anzusehen sein, was selbstredend erst durch die genaue chemische Analyse festgestellt werden kann.

II. Pilzfarbstoffe.

Von der chemisch noch sehr wenig studirten Gruppe der Pilzfarbstoffe untersuchte ich im verflossenen Herbste den von *Peziza aurantia* Oeder, einem Discomyceten, der auf feuchtem, lehmigen Boden in den hiesigen Wäldern sehr häufig vorkömmt. Sein becherförmiger sitzender, meist etwas unregelmässiger, am Rande oft geschlitzter Fruchtkörper ist an der Aussenseite weiss, die Scheibe aber schön orangroth gefärbt. Die Asci sind mit Paraphysen untermengt, treten aus diesen nicht hervor und besitzen in ihrem Innern gewöhnlich acht bohnenförmige oder elliptische, mit grossen Vacuolen versehene Sporen. Legt man dünne Schnitte des Fruchtkörpers dieses Pilzes unter das Mikroskop, so sieht man, dass nur die Paraphysen von einem orangroth gefärbten Plasma sehr feinkörniger Structur erfüllt sind, indes die Sporenschläuche immer farblos erscheinen. Bei einer stärkeren Vergrösserung (400) erscheint das Pigment in Form von ungemein kleinen Körnchen. Behandelt man aber einen solchen Schnitt unter dem Mikroskop mit einem Wasser entziehenden Agens, wie Alkohol, Aether oder Glycerin, so bemerkt man schon bei derselben Vergrösserung, dass sich das Plasma zusammenzieht und in diesem grössere, oft in die Länge gezogene Öltröpfchen sich ansammeln, welche, durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen ausgezeichnet, den Farbstoff in sich gelöst enthalten. Diese Beobachtung lehrt, dass der Farbstoff der *Peziza aurantia* in Form von ungemein kleinen Tröpfchen an eine ölartige Substanz gebunden, im Plasma der Paraphysen gelöst vorkömmt. Ein Gleiches constatirte ich auch für *Peziza convexula*.

Um dem Gewebe das bisher noch unbekannte Pigment, welches ich Pezizin nenne, zu entziehen, kann man Wasser nicht verwenden, denn dieses vermag selbst nach mehrtägiger Einwirkung und nach langem Kochen den Farbstoff nicht zu extrahiren, woraus hervorgeht, dass derselbe mit dem von Reinke[1] in seinen Studien über das Protoplasma von *Aethalium septicum*

[1] Über die Zusammensetzung des Protoplasmas von *Aethalium septicum*, Göttingen 1880, pag. 43.

beschriebenen oranggelben Farbstoff nicht identisch ist. Doch wandte ich mit gutem Erfolg Weingeist, Alkohol und Aether als Extractionsmittel an, während Benzol erst nach längerer Einwirkung lösend wirkt. Was das Verhalten dieses Pigments zu Säuren und Basen betrifft, so mag hervorgehoben werden, dass Salpetersäure dasselbe lichtgrün färbt, während Salzsäure es farblos löst. Legt man ein Stück des getrockneten Fruchtkörpers in Schwefelkohlenstoff, so tritt die orangrothe Färbung sehr intensiv und bedeutend lebhafter auf. Alkalien und organische Säuren verändern den Farbstoff nicht. Derselbe ist auch nicht alkalischer Natur, denn Phenol-Phtalein bringt nicht die geringste Spur einer Rothfärbung hervor. Doch mag folgende Thatsache nicht ohne Interesse sein und daher hier kurz erwähnt werden. Wird nämlich das alkoholische Extract von *Peziza* auf dem Wasserbade eingedunstet, so erhält man als Rückstand eine braune amorphe Masse von demselben eigenthümlichen Geruch, durch welchen sich uns die Samen von *Trigonella Foenum graecum* Lin. sofort verrathen, welche im Inhalt ihrer Endospermzellen ebenfalls einen gelben Farb- und Bitterstoff enthalten.

Panus stipticus Fr. *(Agaricini)* hat einen nierenförmigen, 3—5 Ctm. breiten Hut von ledergelber oder bräunlicher Farbe, die von einem in den Hyphen auftretenden Pigment herrührt, welches durch Alkohol und Aether ausziehbar ist, durch Schwefelsäure schmutzigroth gefärbt wird und schön fluorescirt. Es erscheint nämlich der alkoholische Auszug im auffallenden Lichte dunkelgrün, im durchfallenden Lichte braun bis gelb, je nach der Menge des gelösten Pigmentes.

III. Über den directen Nachweis des Saponin im Gewebe der Pflanze.

Obwohl dieses Glycosid sehr häufig, und zwar in Pflanzen aus den verschiedensten Familien, wie in den Sileneen, Polygaleen, Spiraeaceen, Sapindaceen etc. aufgefunden wurde, so ist über die locale Vertheilung desselben im Gewebe weitaus weniger bekannt, als man gemäss dem heutigen Stande der Chemie vermuthen

sollte. Ich stellte mir daher die Aufgabe, den Sitz des Saponin auf Grund genauer Beobachtungen mittelst chemischer Reagentien festzustellen. Zu seinem Nachweise wurden folgende Eigenschaften und Reactionen des chemisch reinen Productes verwendet. Dasselbe ist in Wasser in jedem Verhältnis löslich, in Weingeist nur im Verhältnis des Wassergehaltes und zwar in heissem Weingeist reichlicher als in kaltem. In absolutem Alkohol und Aether ist es unlöslich. Den Lösungen, in welchen es vorhanden ist, ertheilt das Saponin in hohem Grade die Fähigkeit zu schäumen und Fette in Emulsion zu bringen. Reine concentrirte Schwefelsäure löst das auf einem Uhrschälchen befindliche Pulver anfangs mit gelber, später mit lebhaft rother, nach längerem Stehen (10—15 Minuten) an der Luft aber mit deutlich blau-violetter Farbe. Ich habe mich überzeugt, dass diese Reaction in Folge der intensiven Tinctionserscheinung auch mikroskopisch anwendbar ist. Bringt man nämlich nur eine sehr geringe Menge des Pulvers auf einen Objectträger und fügt man einen Tropfen der conc. Säure hinzu, so treten bei mikroskopischer Betrachtung in kurzen Zwischenräumen die drei genannten Farbentöne mit derselben Intensität ein, wie man sie makroskopisch zu beobachten Gelegenheit hat.

Zum directen Nachweis in der Zelle sind nun jene Pflanzen heranzuziehen, in welchen das Saponin relativ reichlich auftritt, so *Saponaria officinalis* (Wurzel), *Gypsophila Struthium* (Wurzel) und *Quillaia Saponaria* (Rinde). Der anatomische Bau der *Radices Saponariae* ist bereits von mehreren Forschern, am genauesten von A. Vogl[1] untersucht werden. Ich setze daher denselben hier als bekannt voraus. Vogl gibt auch die ersten Andeutungen über den Sitz des Saponin in der Drogue. Nach ihm findet sich in allen Parenchymzellen der Seifenwurzeln ein form- und farbloser Klumpen, welcher sich in Wasser, verdünntem Alkohol und verdünnten Säuren und Alkalien fast gänzlich auflöst, von absolutem Alkohol und Aether aber nicht angegriffen wird, weder die Zucker- noch die Gerbstoffreaction gibt und wahrscheinlich wesentlich aus Saponin bestehen dürfte. Dasselbe sagt Vogl[2] von der Seifenrinde *(Cortex Quillaiae)*. Vogl unter-

[1] Zeitschrift des österr. Apothekervereines Jahrg., 1865, pag. 460—466.
[2] Commentar der österr. Pharmacopoe, Wien 1869, I., pag. 238.

suchte trockenes Material, Rob. Schlesinger[1] frisches. Aber auch er hatte lediglich nur die gewöhnlichen Lösungsmittel zum Nachweis benützt. Um daher das Saponin im Pflanzengewebe mikroskopisch nachzuweisen, unterwarf ich verschiedene Quer- und Längsschnitte zuvörderst aus den frischen Seifenwurzeln der mikrochemischen Untersuchung. Hiebei zeigte es sich, dass alle Parenchymzellen als Inhalt einen farblosen Zellsaft führen, einzelne von ihnen auch grosse Krystallgruppen von oxalsaurem Kalk, andere wieder in geringer Menge Plasma mit Zellkern enthalten. Betrachtet man dünne Querschnitte der getrockneten Wurzeln in Luft oder unter Öl oder Glycerin, so erscheinen in allen Zellen der Mittelrinde, in den Zellen der Markstrahlen und des Holzparenchyms (mit Ausnahme jener Zellen, welche Krystallgruppen führen) formlose, homogene, weisslichgraue Inhaltsklumpen, welche sich bei Zusatz von Wasser oder sehr verdünntem Weingeist vollkommen lösen und durch absoluten Alkohol und Aether in Form von sehr kleinen Klümpchen wieder ausgeschieden werden können.

Zum weiteren Nachweis des Saponin verfuhr ich aber auf folgende Weise. Ich behandelte auf dem Objectträger dünne Quer- und Längsschnitte der Drogue mit reiner concentrirter Schwefelsäure. Sobald jene Inhaltsklumpen der Zellen von der Säure berührt wurden, färbten sie sich gelb und lösten sich nur allmälig auf. Diese Färbung gieng dann rasch in ein lebhaftes Roth und später in Blauviolett über. Man könnte nun einwenden, dass diese Reaction der Raspail'schen entspräche, nämlich die Gegenwart von Eiweiss und Zucker anzeige. Allein abgesehen davon, dass bei genauer Betrachtung eine Verwechslung nicht statthaben kann, indem die Raspail'sche Reaction mit rother Farbe beginnt und ebenso schliesst, liess sich in Querschnitten (und zwar in dickeren) nach längerem Kochen derselben in Wasser, wobei das Saponin in Lösung übergegangen ist, durch die Raspail'sche Reaction (Zuckerlösung und conc. Schwefelsäure) Protoplasma nur in der Cambialzone und in höchst geringer Menge hie und da im übrigen Zellgewebe nachweisen. Die

[1] Untersuchungen über die Structur der Quillaiarinde etc., abgedruckt in Wiesner's mikroskopischen Untersuchungen, Stuttgart 1872, pag. 94 und d. f.

Reaction mit Schwefelsäure ist für das Saponin so charakteristisch, dass selbst sehr geringe Mengen dieses Glycosids, wie die im Inhaltsklumpen einer einzigen Zelle, mit Sicherheit nachgewiesen werden können. Die Intensität der Farbentöne ist dabei hauptsächlich von dem Concentrationsgrade der Säure abhängig, wie man sich sehr leicht an dem chemisch reinen Product überzeugen kann. Wird verdünnte Säure angewendet, so bleibt die Reaction wohl nicht aus, doch vergeht dabei oft eine halbe Stunde, bis die drei Farbentöne nach einander eintreten, wobei sich Diffusionserscheinungen einstellen, durch welche eine diffuse Färbung hervorgerufen wird, die sehr störend wirken kann.

In der angegebenen Weise wurde von mir das Saponin in folgenden Gewebselementen nachgewiesen:

1. In allen Parenchymzellen der Mittelrinde.
2. in den Zellen der Markstrahlen,
3. in den Zellen des Holzparenchyms,

der gemeinen und levantinischen Seifenwurzel, wie auch ihrer Stolonen,

4. in allen Parenchymzellen der Mittelrinde von *Quillaia Saponaria.*

Behandelt man Querschnitte der frischen Wurzeln mit der Säure, so werden alle genannten Theile des Gewebes in ihrem Inhalt blauviolett gefärbt, während die übrigen Partien unverändert bleiben. Betrachtet man genau fixirte Zellen von Schnitten der frischen Wurzel in Luft oder fettem Öl, so sieht man, wie schon erwähnt, die Zellen mit farblosem Zellsaft erfüllt. Werden solche Schnitte langsam eingetrocknet oder mit absolutem Alkohol oder Aether behandelt, so fällt das Saponin in den Zellen in Form von grösseren und kleineren Klümpchen heraus, welche bei Zusatz von conc. Schwefelsäure mit blauvioletter Farbe gelöst werden. Da ausserdem bei Behandlung des Gewebes mit der Säure zu wiederholten Malen auch die Krystallgruppen, welche seinerzeit doch aus dem Zellsafte krystallisiren mussten, in vielen Fällen eine gelbe und dann röthliche Färbung zeigten, so ist es erwiesen, dass das Saponin in den genannten Pflanzen im Zellsafte gelöst vorkömmt, durch Verdunsten des wässerigen Zellsaftes beim Trocknen aber als ein amorpher Körper herausfällt und im Zellraum als Klümpchen verbleibt, wie es Vogl in der Drogue gesehen und als Saponin gedeutet hat.

Meine Versuche ergeben:

1. Das Saponin kommt in den lebenden Wurzeln von *Saponaria officinalis* L. und *Gypsophila Struthium* L. im Zellsaft gelöst vor und kann entweder durch Trocknen oder durch Behandlung dünner Schnitte mit absolutem Alkohol oder Aether in Form von kleinen, formlosen weissen Klümpchen ausgeschieden werden.

2. Die Droguen oder die getrockneten Wurzeln dieser Pflanzen und die *Quillaia*-Rinde enthalten — wie bereits Vogl fand — das Saponin in Form von homogenen, formlosen weissen oder grauen Inhaltsklumpen, welche sich wie das chemisch reine Saponin in concentrirter Schwefelsäure anfangs mit gelber, später mit lebhaft rother, nach längerem Liegen eines so behandelten Schnittes an der Luft aber mit schöner blauvioletter Farbe lösen.

3. Mittelst dieser Reaction konnte das Saponin im Inhalte aller Zellen des Parenchyms der Mittelrinde, der Markstrahlen und des Holzparenchyms bei frischen und getrockneten Wurzeln, wie auch im Inhalte aller Parenchymzellen der Mittelrinde von *Quillaia Saponaria* nachgewiesen werden.

IV. Über den Sitz und den mikrochemischen Nachweis des Strychnin in den Samen von *Strychnos nux vomica* L. und *Strychnos potatorum* L.

Von Alkaloiden ist bisher blos das Veratrin[1] mit Sicherheit mikrochemisch in der Pflanze nachgewiesen worden. Ich theile daher meine Beobachtungen über den Sitz und den mikroskopischen Nachweis des Strychnin in den genannten Samen mit. Hiezu wurde von mir folgende bekannte Reaction des Alkaloids benützt. Concentrirte kalte Schwefelsäure löst das krystallisirte Strychnin farblos. Bringt man in dieser zweckmässig in einem Uhrschälchen auf weisser Unterlage gemachten Lösung ein sehr kleines Bruchstückchen von Kaliumbichromat und bewegt dieses von Zeit zu Zeit, so entstehen von demselben ausgehend prachtvoll violette Streifen.

---

[1] Borscow, Beiträge zur Histochemie, Bot. Zeit. 1874, I., II., pag. 17 u. f.

Die anatomischen Verhältnisse der *Strychnos*-Samen sind oft beschrieben worden.[1] Ich will mich deshalb hier darauf beschränken, das Endospermgewebe, in welchem das Strychnin ausschliesslich vorkömmt, kurz zu charakterisiren. Die Samen sind flach, scheibenförmig, ungefähr 20 Mm. breit und 5 Mm. dick, die eine der Begrenzungsflächen ist convex, die andere flach, in der Mitte mit einem Hagelfleck versehen, von welchem aus die Samennaht als schwach erhabene Linie zu dem am Rande liegenden warzigen Nabel verläuft. Die Samen erscheinen beim ersten Anblick mit einem der Oberfläche dicht anliegenden Haarfilz bekleidet. Die Samenschale besteht, im Querschnitt betrachtet, aus einer Lage von kurzen Zellen, welche in ein der Samenfläche angedrücktes einzelliges Haar auslaufen und dicke bräunliche Wände besitzen. Darauf folgt eine sehr zusammengepresste Schicht braunwandiger Tafelzellen, welche erst beim Aufquellen in Wasser deutlich hervortreten. Das hornartige, weisslichgraue Endosperm wird aus polyedrischen, im äusseren Theile aus kleineren mehr radial gestreckten und relativ dünnwandigen, im inneren aus grössseren, mehr isodiametrischen und dickwandigen Zellen gebildet. Der schwach gelbliche, körnige Inhalt, der zum grossen Theil aus Eiweiss und Zucker besteht, stellt sich in Luft oder unter Öl oder Glycerin gesehen, als eine oft in kantige Stücke zerfallene Masse dar, die in ihrem Innern entweder zahlreiche sehr kleine oder mehrere grössere Tröpfchen, niemals aber Stärkekörner führt. Die Samen von *St. potatorum* L. sind kugelig und bedeutend kleiner, erreichen ungefähr Erbsengrösse und haben einen analogen Bau. Auch das weiss oder dunkelbraun aussehende Endosperm ist dem von *St. nux vomica* ähnlich gebaut.

Über den Sitz des Strychnin in dem Gewebe, wie auch über die Art des Vorkommens in den Samen ist man bislang gänzlich im Unklaren geblieben. Vogl vermuthet, dass es in den aus Zucker und Fett bestehendem Inhalt der Eiweisszellen enthalten sei. Bekannt ist, dass concentrirte Schwefelsäure den Inhalt der Zellen anfangs gelb, dann rasch rosenroth oder zwiebelroth färbt,

---

[1] A. Vogl, Commentar der österr. Pharmacopoe, Wien 1869, Bd. I. pag. 214.

während die im Eiweiss eingeschlossenen Tröpfchen ungefärbt bleiben. Diese Reaction beweist die Anwesenheit von Eiweiss und Zucker. Wenn aber bei Behandlung eines Schnittes mit Kalilauge das Gewebe mit gelber Farbe gelöst wird, so kann diese Färbung ebenfalls nicht von dem Strychnin herrühren, denn dieses wird von Kalilauge nicht verändert. Es können mithin die genannten Erscheinungen für das Strychnin nicht charakteristisch genannt werden.

Bei der vorliegenden Untersuchung kam es mir daher vor Allem darauf an, festzustellen, ob diese im Zellinhalt des Endosperms eingeschlossenen und zahlreich vorhandenen kugelförmigen Tropfen aus fettem Öl bestehen. Dieselben blieben bei Behandlung des Gewebes mit Wasser, absolutem Alkohol unverändert, verschwanden aber allmälig bei Zusatz von Aether oder Benzol. Wurde einem frischen Schnitt zweipercentige Osmiumsäure zugefügt, so färbte sich der gesammte Inhalt, welcher von den zahlreichen Tröpfchen ganz durchdrungen ist, tiefbraun oder schwarzbraun. Mithin steht es zweifellos fest, dass die genannten Tröpfchen aus fettem Öl bestehen. Behandelte ich dünne Quer- und Längsschnitte auf dem Objectträger mit reiner conc. Schwefelsäure, so trat die bereits früher genannte rosenrothe Färbung ein. Fügte ich nun zu einem solchen mit Säure behandelten Schnitte ein sehr kleines Bruchstückchen von Kaliumbichromat (ungefähr von der Grösse eines kleinen Insectennadelkopfes) hinzu, so färbten sich schon nach wenigen Minuten in Folge der oxydirenden Wirkung des Salzes sämmtliche früher farblosen Öltröpfchen schön violett, welche Färbung bei stärkerer Vergrösserung blauviolett erschien. Die so gefärbten Tröpfchen wurden bei nur geringem Zusatz von Osmiumsäure wieder braun. Sämmtliche durch das Endosperm der Samen von *Strychnos nux vomica* und *St. potatorum* geführten Quer- und Längsschnitte zeigten mir bei der obigen Behandlung diese Farbenreaction. Sie ist so constant und charakteristisch, dass selbst die geringste Menge des Alkaloids wie jedes kleinste Öltröpfchen sich prachtvoll violett färbt, während die Zellmembranen ohne die geringste Tinctionserscheinung sich allmälig spurlos lösen. Besonders schön tritt dieselbe in den subtestalen Zellschichten auf.

Da das chemisch reine Strychnin nicht nur dieselbe Reaction zeigt, sondern auch in fettem Öl löslich ist, so kann es keinem Zweifel unterliegen, dass das in den genannten Samen enthaltene Alkaloid in den im Inhalte der Endospermzellen suspendirten Öltröpfchen aufgelöst vorkömmt.

Zum Schlusse kann ich nicht umhin, meinem hochgeehrten Lehrer Herrn Professor Dr. J. Wiesner, sowie dessen Herrn Assistenten Dr. H. Molisch für die fürsorgliche Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen wärmsten und verbindlichsten Dank auszusprechen.